



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTOS NATIVOS DE *Metarhizium sp.*
PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA CHINCHE *Antiteuchus tripterus*
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) EN TABASCO, MÉXICO.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MIGUEL ÁNGEL MAYO HERNÁNDEZ

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DR. MAGDIEL TORRES DE LA CRUZ

EN CODIRECCIÓN DE:

DR. MANUEL PÉREZ DE LA CRUZ

VILLAHERMOSA, TABASCO, A 2 DE JULIO 2024.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
**Felipe Carrillo
PUERTO**
PRESIDENTE DEL GOBIERNO
REVOLUCIONARIO Y DE FRENTE
DEL YUCÁN
SECRETARÍA DE
ESTADO DE
MÉXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 20 de Junio de 2024

ASUNTO: Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza al **C. MIGUEL ÁNGEL MAYO HERNÁNDEZ** egresado de la Lic. en **BIOLOGIA** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: **"CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTO NATIVOS DE *Metarhizium* SP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA CHINCHE NEGRA (*Antiteuchus tripterus*) DEL CACAO"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica
C.c.p.- Interesado



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN
PÚBLICA Y CULTURA
MEXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

JUNIO 20 DE 2024

C. MIGUEL ÁNGEL MAYO HERNÁNDEZ
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA
P R E S E N T E

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTO NATIVOS DE *Metarhizium* SP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA CHINCHE NEGRA (*Antiteuchus tripterus*) DEL CACAO"**, asesorado por el Dr. Magdiel Torres de la Cruz y Dr. Manuel Pérez de la Cruz, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por la Dra. Aracely de la Cruz Pérez, Dr. Lenin Arias Rodríguez, Dr. Magdiel Torres de la Cruz, M. en C. Marcela Alejandra Cid Martínez y MCA. Ma. Guadalupe Rivas Acuña.

A T E N T A M E N T E
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.





**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
**Felipe Carrillo
PUERTO**
FUNDACIÓN DEL PROFESORADO,
PROFESIONALES Y DOCENTES
DEL ESTADO
GOBIERNO DEL
MÉXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

20 de junio de 2024

C. Miguel Ángel Mayo Hernández
Pasante de la Lic. en Biología.
PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (**Tesis**), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la revisión en la plataforma iThenticate de su documento de tesis "**Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium* sp. para el control biológico de la chinche negra (*Antiteuchus tripterus*) del cacao**".

OBSERVACIONES:

Se excluyeron citas, bibliografía y se limitó el número de coincidencias a 15 palabras.

RESULTADO DE SIMILITUD	4 %
	12152 palabras, 19 coincidencias, 13 fuentes

Finalmente, se le solicita al **C. Miguel Ángel Mayo Hernández**, integrar en la versión final del trabajo recepcional (Tesis), este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

COAT.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p. Dr. Magdiel Torres de la Cruz. Director de tesis.
C.c.p. Dr. Manuel Pérez de la Cruz. Codirector de tesis.
C.c.p. Archivo

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **“CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTO NATIVOS DE *Metarhizium* SP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA CHINCHE NEGRA (*Antiteuchus tripterus*) DEL CACAO”**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 20 de Junio de Dos Mil Veinticuatro.

AUTORIZO



MIGUEL ÁNGEL MAYO HERNÁNDEZ

AGRADECIMIENTOS

A mi familia; que me brindaron su apoyo incondicional y el impulso por seguir adelante.

A mis asesores: Dr. Magdiel Torres de la Cruz y Dr. Manuel Pérez de la Cruz, por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo, transmitirme sus valiosos conocimientos, y por su paciencia durante el desarrollo de este trabajo.

A Daniela Velázquez García y Nitzarindany Acencio Castillo, por su amistad, apoyo y por los buenos momentos brindados durante el desarrollo de este trabajo.

A mis amigos y a las personas que participaron y brindaron su granito de arena para alcanzar este objetivo.

Моей учительнице русского языка Александра Ивашова, за твою дружбу, которая поддержала меня в этой работе.

ÍNDICE

	Pag:
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Origen e importancia de <i>Theobroma cacao</i>	3
2.2. Taxonomía de <i>Theobroma cacao</i>	3
2.3. Morfología de <i>Theobroma cacao</i>	4
2.4. Producción de cacao en México.....	6
2.5. Plagas insectiles del cacao en México.....	7
2.5.1. Barrenador (<i>Xyleborus</i> spp.).....	7
2.5.2. Cochinilla rosada (<i>Maconellicoccus hirsutus</i>).....	7
2.5.3. Mosca blanca (<i>Lecanoideus floccissimus</i>).....	7
2.5.4. Hormiga arriera (<i>Atta</i> spp.).....	7
2.5.5. Salivazo (<i>Clastoptera laenata</i>).....	7
2.5.6. Pulgón negro (<i>Toxoptera aurantii</i>).....	8
2.5.7. Trips de banda roja (<i>Selenothrips rubrocinctus</i>).....	8
2.6. <i>Antiteuchus tripterus</i> , importancia.....	8
2.7. Taxonomía de la chinche <i>Antiteuchus tripterus</i>	9
2.8. Morfología de <i>Antiteuchus tripterus</i>	9
2.9. Ciclo de vida de <i>Antiteuchus tripterus</i>	10
2.10. Hospederos de <i>Antiteuchus tripterus</i>	10
2.11. Métodos de control de <i>Antiteuchus tripterus</i>	11
2.11.1. Control cultural.....	11
2.11.2. Control químico.....	11
2.11.3. Control biológico.....	11
2.12. El género <i>Metarhizium</i> , importancia y distribución.....	12
2.13. Taxonomía del género <i>Metarhizium</i>	13
2.14. Morfología de <i>Metarhizium</i> spp.....	14
2.15. Modo de acción de <i>Metarhizium</i> spp.....	15
2.16. Factores que afectan a los hongos entomopatógenos.....	16
2.17. Importancia de la caracterización de hongos entomopatógenos.....	16
2.18. Estudios de caracterización de hongos entomopatógenos.....	17
III. OBJETIVOS.....	19

3.1.	Objetivo general:	19
3.2.	Objetivos particulares:	19
IV.	JUSTIFICACIÓN	20
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1.	Sitio de muestreo	21
5.3.	Caracterización morfológica	22
5.4.	Identificación molecular	23
5.5.	Caracterización fisiológica	23
5.5.1.	Crecimiento micelial	23
5.5.2.	Producción de conidios en medio ADS	24
5.5.3.	Velocidad de germinación	25
5.6.	Caracterización patogénica	25
5.7.	Caracterización cultural	26
5.7.1.	Producción de conidios en arroz	26
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
6.1.	Identificación morfológica	28
6.3.	Caracterización fisiológica	31
6.3.1.	<i>Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial.</i>	31
6.3.2.	<i>Velocidad de germinación.</i>	32
6.3.2.	<i>Producción de conidios en medio ADS + E.L.</i>	34
6.4.	Caracterización cultural	36
	<i>Producción de conidios en arroz.</i>	36
6.5.	Caracterización patogénica	36
VII.	CONCLUSIONES	38
VIII.	LITERATURA CITADA	39

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag:
Figura 1. Árbol <i>Theobroma cacao</i>	5
Figura 2. Frutos de <i>Theobroma cacao</i> , en diferentes fases de desarrollo.....	6
Figura 3. Colonia de <i>Antiteuchus tripterus</i> en <i>Theobroma cacao</i> , Tabasco, México.....	10
Figura 4. Estructuras de <i>Metarhizium</i> sp.....	14
Figura 5. Adulto de <i>Antiteuchus tripterus</i> micosado por <i>Metarhizium</i> sp. en <i>Theobroma cacao</i> , Tabasco, México	22
Figura 6. Morfología de <i>Metarhizium</i> sp.....	28
Figura 7. Análisis filogenético.....	30
Figura 8. Efectividad de aislamientos nativos de <i>Metarhizium brunneum</i> sobre adultos <i>A. tripterus</i>	37

ÍNDICE DE TABLAS

	Pag:
Tabla 1.- Ordenes y familias hospedantes de <i>Metarhizium anisoplae</i>	13
Tabla 2. Mediciones de conidios de aislamientos de <i>Metarhizium</i> sp. obtenidos de adultos de <i>Antiteuchus tripterus</i> micosados, en <i>Theobroma cacao</i> , Tabasco, México.	29
Tabla 3. Desarrollo micelial e inhibición o incremento de cepas nativas de <i>Metarhizium</i> sp., obtenidos de adultos de <i>Antiteuchus tripterus</i> , en el agroecosistema de cacao, Tabasco, México.	32
Tabla 4. Tiempo de germinación del 50% de los conidios (TG ₅₀) de <i>Metarhizium brunneum</i> evaluados a 25, 30 y 35°C.	33
Tabla 5. Tiempo de germinación del 90% de los conidios (TG ₉₀) de <i>Metarhizium brunneum</i> , evaluados a 25, 30 y 35°C.	34
Tabla 6. Producción de conidios de <i>Metarhizium brunneum</i> caracterización cultivados en arroz y medio ADS + E.L.	35

RESUMEN

Con la finalidad de identificar y seleccionar aislamientos nativos de *Metarhizium* sp para el control de la chinche negra del cacao (*Antiteuchus tripterus*) en Tabasco, México, se aislaron cinco cepas fúngicas las cuales se caracterizaron conforme a variables morfológicas, moleculares fisiológicas y patogénicas. El crecimiento micelial, la germinación y la producción de conidios en medio SDA se evaluaron a 25, 30 y 35. Además, se evaluó la producción de conidios en arroz a 25 °C. Los aislamientos se edificaron como *M. brunneum*, Todos los aislamientos de *M. Brunneum* mostraron variabilidad intraespecífica en cuanto a desarrollo micelial, velocidad de germinación, producción conidial y patogenicidad. Hubo diferencias en ($P < 0.0085$) en el crecimiento micelial a 25°C. No hubo crecimiento micelial a 35°C. El rango de temperatura favorable para los aislamientos nativos de *M. brunneum* fue de 25-30°C. Por otro lado, hubo diferencias significativas en la producción de conidios en arroz ($P < 0.0004$). El tiempo requerido para la germinación del 50% de conidios (TG_{50}) varió de 7.8 a 21.9 h, el TG_{90} varió de 9.5 a 27.7 h. los cinco aislamientos fúngicos evaluados mostraron efectividad patogénica sobre *A. tripterus* la cual oscilo entre 72 a 96%. Con base a las características evaluadas, los aislamientos más promisorios como agentes de control de *A. tripterus* fueron TCCH5 y TCCH9. Este trabajo reporta a *M. brunneum* como el causante de la muscardina verde de *A. tripterus* en Tabasco, México. La variabilidad intraespecífica en las características evaluadas muestra la importancia de la caracterización de aislamientos nativos; además, revela el potencial de *M. brunneum* para el desarrollo de bioinsecticidas contra *A. tripterus*.

I. INTRODUCCIÓN

La especie *Theobroma cacao* L. (1753) fue registrada por primera vez en la Amazonia y se ha cultivado por más de 5,000 años en varias regiones del mundo (Jara 2022). Esta especie pertenece a la familia Malvaceae y el género *Theobroma* posee 22 especies descritas, ubicadas principalmente en Sudamérica y partes de Centroamérica (CAAFF 2021). Las únicas especies que se distribuyen naturalmente hasta México son *T. cacao* L y *T. bicolor* Humb. & Bonpl (CAAFF 2021). En este país, *T. cacao* se cultiva en los estados de Oaxaca, Chiapas, Guerrero, Veracruz y Tabasco, siendo esta última entidad la que mayor participación tiene en la producción (Niembro *et al.* 2010). De acuerdo con Avendaño (2021) el estado de Tabasco cuenta con una superficie cultivada de 40,913.26 ha, que representan el 68.59%, con una producción de 18,297.53 por año, posicionando a esta entidad federativa en primer lugar en producción. De acuerdo con SAGARPA (2017) se pronostica el aumento en la demanda en los próximos años; no obstante, las limitaciones ocasionadas por las enfermedades y plagas hacia este cultivo ponen en riesgo la producción.

En México, diversas especies de insectos se han reportado atacando a *T. cacao*, reduciendo la calidad y rendimiento de la producción. Entre los insectos reportados se encuentran: la cochinilla rosada del hibisco (*Maconellicoccus hirsutus* Green, 1908) (Hemíptera: Pseudococcidae) (Torres de la Cruz *et al.* 2019), el salivazo (*Clastoptera laenata* Fowler 1898) (Hemíptera: Cercopidae) (Gerónimo-López *et al.* 2013), la mosca blanca (*Lecanoideus floccissimus* Martin 1997) (Hemíptera: Aleyrodidae) (Cortez-Madrigal *et al.* 2008), el gusano lagarta (*Hemeroblema mexicana* Guenée, 1852) (Lepidóptera: Noctuidae), el trips de banda roja (*Selenothrips rubrocinctus* Giard 1901) (Thysanoptera: Thripidae), el pulgón negro (*Toxoptera aurantii* Boyer de Fonscolombe 1841) (Hemíptera: Aphididae) y el barrenador (*Xyleborus vulvulus* Fabricius 1775) (Coleóptera: Curculionidae) (Sánchez-Soto y Cortez-Madrigal 2000).

Recientemente, en plantaciones de cacao de Tabasco, México, se ha reportado a la chinche negra del cacao (*Antiteuchus tripterus* Fabricius 1787) (Hemíptera: Pentatomidae) y con ello se dio la oportunidad para estudiar la fluctuación poblacional en una plantación de cacao del municipio de Teapa (datos no publicados). Esta especie ha sido señalada como una plaga importante del cacao en países del Caribe y de América del Sur (p. ej. Perú, Ecuador, Colombia) (Reyes y Capriles 2000). El insecto *A. tripterus* ataca los pedúnculos y la base de los frutos donde succiona savia e inyecta toxinas, ocasionando la marchitez y muerte de los chillillos. En frutos desarrollados, la chinche ocasiona lesiones poco profundas que pueden extenderse desde el pedúnculo hacia el ápice del fruto; donde las lesiones pueden ser sitio de entrada de hongos patógenos. Además, se ha reportado que esta especie actúa como vector mecánico de la moniliasis del cacao (Gómez y Ramos 2005).

A pesar de la importancia de *A. tripterus* como plaga de *T. cacao*, la información sobre esta especie es escasa; sin embargo, esta especie representa una amenaza para la producción local. El control químico de *A. tripterus* puede reducir significativamente las poblaciones de este insecto; sin embargo, el uso de insecticidas sintéticos puede ocasionar resistencia (Tamayo *et al.* 2008); además, estos productos tienen efecto residual, no son selectivos y son tóxicos para el hombre y animales domésticos. En la búsqueda de estrategias de control más amigables con el ambiente, el control biológico representa una alternativa viable. Al respecto, Salas (1984) reportó que el parasitoide *Phanuropsis semiflaviventris* (Hymenoptera: Scelionidae) mostró un efecto superior al 80% en el control de *A. tripterus* en Venezuela. Por otro lado, Sánchez *et al.* (2008), reportó la efectividad de los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces lilacinus*, sobre *A. tripterus* en Colombia. A pesar de la presencia de *A. tripterus* en plantaciones de cacao en México, no existe un estudio que permita una alternativa de control con hongos entomopatógenos nativos; por lo cual, en el presente trabajo se realizará la búsqueda y caracterización de hongos entomopatógenos, para el control de *A. tripterus* en Tabasco, México.

II. ANTECEDENTES

2.1. Origen e importancia de *Theobroma cacao*

La especie *T. cacao* es originaria de la cuenca del río Amazonas, entre los países de: Ecuador, Perú, Colombia y Brasil. Esta especie es la más explotada comercialmente en el género *Theobroma* (Portillo *et al.* 2006). El cultivo del cacao es de relevante importancia socioeconómica en Centro América, Sudamérica y el Caribe, debido a la importancia de su materia prima en la exportación (Sánchez *et al.* 2019). Se han desarrollado numerosas empresas exitosas basadas en los subproductos obtenidos a partir de las semillas, siendo el chocolate el producto más conocido (Imán 2019).

2.2. Taxonomía de *Theobroma cacao*

El nombre científico *T. cacao* fue acuñado en 1758 por el botánico sueco Carlos Linneo. en griego, el nombre *Theobroma* se traduce como “alimento de los dioses” (Imán 2019). Debido a sus características morfológicas y anatómicas, tres variedades genéticas se han delimitado: *T. cacao* subsp. Criollo, *T. cacao* subsp. *Sphaerocarpum* y la variedad de cacao trinitario (Ricaño 2018). Por otro lado, de acuerdo con Mendoza-López *et al.* (2018) el *T. cacao* se clasifica como sigue:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malvales

Familia: Malvaceae

Subfamilia: Byttnerioideae

Género: *Theobroma*

Especie: *T. cacao* L

2.3. Morfología de *Theobroma cacao*

T. cacao es un árbol semicaducifolio de corteza oscura con ramas color café, (Armijos 2020) (Figura 1). La base del tronco es recta y se puede desarrollar en formas muy variadas (Palomeque 2022). Presenta hojas coriáceas simples, 7—10(—14) cm de ancho y 17—48(—60) cm de largo, enteras, angostamente ovadas, Alternas y glabras, ligeramente asimétricas (Dostert *et al.* 2012).



Figura 1. Árbol de *Theobroma cacao*.

El cacao es caulífero, con flores que crecen en el tronco principal y ramas. Cada cojín floral contiene flores en distintas fases del desarrollo (Nienemak 2009). Las Flores son pediceladas, hermafroditas con cinco sépalos, cinco pétalos, cinco estambres, cinco estaminoides y un ovario penta carpelar súpero. Estas flores son hermafroditas, actinomorfas, pentámeras de (5—)10— 20 mm de diámetro; el pedúnculo floral es de 1—3 cm de largo (Quintos, 2019; Dostert *et al.* 2012). La floración del cacao suele ser abundante, con hasta 120.000 flores por árbol cada año (Nienemak 2009). También presenta sépalos blancos, rosas claros o verdosos, con medidas de 5—8 mm de largo y 1.5—2 mm de ancho (Dostert *et al.* 2012). El fruto (Figura 2) es una baya de 10 a 32 cm, liso, a veces corrugado. La forma de los frutos puede ser amelonada y hasta fusiforme (Quintos 2019). Las semillas son café-rojizas, ovadas, ligeramente comprimidas, con medidas de 20, 30 y hasta 50 mm de largo, de 12 a 16 mm de ancho y 7 a 12 mm de grosor (Armijos 2020). Las

semillas se disponen en cinco filas en el fruto, el número de semillas en el fruto suele oscilar entre 20 y 50 (Nienemak 2009). El sistema radical se forma de una raíz principal que en circunstancias logran penetrar hasta 1 m de profundidad, favoreciendo la toma de los nutrientes y un gran alcance del sistema superficial de las raíces que se encuentran a unos 15 cm. de profundidad (Mejía *et. al.* 2017).

Figura 2. Frutos de *Theobroma cacao* en diferentes fases de desarrollo.



2.4. Producción de cacao en México

El cultivo del cacao se originó en México y actualmente presenta una gran importancia cultural y económica (SAGARPA 2017). De acuerdo con CEDRSSA (2020), México ocupa el decimotercer lugar en producción a nivel mundial, en este país, se cultivan 52,499 ha, en beneficio de 41,000 familias, y los estados de Chiapas y Tabasco concentran la mayor producción nacional (SIAP 2022). Este producto tiene un consumo per cápita de 0.5 kg en México, (SAGARPA 2017). En el Estado de Tabasco, Los municipios que se dedican al cultivo de cacao son: Cunduacán, Huimanguillo, Comalcalco y Cárdenas, (CEDRSSA 2020).

2.5. Plagas insectiles del cacao en México

2.5.1. Broca (*Xyleborus* spp.). En estado adulto, la broca es de color café a rojo pardo, de 2 a 3 mm de largo (Mosquera, 2020). El daño se atribuye a las hembras quienes barrenan el cuello de los árboles de cacao y las ramas haciendo túneles ramificados, donde cultivan hongos que le sirven de alimento (Chicas *et al.* 2019).

2.5.2. Cochinilla rosada (*Maconellicoccus hirsutus*). La cochinilla rosada del hibisco (CRH) es una plaga polífaga de importancia económica responsable de causar daños en hojas, flores, frutos y brotes de *T. cacao* (Torres de la Cruz *et al.* 2020; Cermeli *et al.*, 2002).

2.5.3. Mosca blanca (*Lecanoides floccissimus*). La mosca blanca adulta posee una coloración amarillo pálido, con una apariencia blanca debido a la secreción de un polvo seroso (Caro-López 2017). Esta especie puede causar daños directos e indirectos. Esta especie puede causar daños directos al succionar la savia de la planta; sin embargo, puede causar daños indirectos debido a las excreciones de mielecillas que provocan el crecimiento de hongos del género *capnodium*, causando "Fumagina. Esta puede causar caída prematura de hojas, y en infestaciones fuertes, matar la planta (Cortez *et al.* 2008).

2.5.4. Hormiga arriera (*Atta* spp.). La hormiga arriera es de cabeza y mandíbula grande, de color pardo-rojizo. Son insectos cortadores muy activos y pueden defoliar de forma severa a las plantas atacadas (Fernando 2022). Los primeros instares larvales sólo esqueletizan las hojas; sin embargo, a partir del cuarto instar las larvas son defoleadoras un aspecto de criba o cedazo, pero a partir del cuarto hasta el séptimo instar se convierte en un voraz defoliador, dejando a la hoja sólo en nervaduras (Mosquera 2020). Cuando el ataque es severo, las hojas se desprenden (Mosquera 2020).

2.5.5. Salvazo (*Clastoptera laenata*). Este insecto es una especie polífaga y una de las plagas importantes del cultivo de cacao (Giménez de la cruz y Sánchez 2018). Los adultos, llegan a medir entre 2-3 mm, son de color marrón y de aspecto

globoso o semigloboso (Martínez *et al.* 2012) Las ninfas viven dentro de una espuma en el pedicelo de flores y frutos tiernos. Estos insectos se alimentan succionando savia, e introduciendo saliva toxica que provoca marchitez del fruto (Jiménez de la Cruz y Sánchez 2018).

2.5.6. Pulgón negro (*Toxoptera aurantii*). Son insectos de color gris oscuro y de forma globosa, de 1,0 a 2,0 mm de longitud, (Valarezo 2012). Esta especie succiona savia en las hojas y ramitas tiernas, ocasionando el “enchinamiento” de las hojas, siendo este característico (Ruiz y Coronado 1999). Cuando la infestación es severa, el crecimiento del árbol se ve afectado porque los brotes reducen su efectividad fotosintética (Ruiz y Coronado 1999). Provoca enfermedades ocasionadas por el agente vector y, por ende, la reducción del rendimiento del cultivo (INIAP 2019).

2.5.7. Trips de banda roja (*Selenothrips rubrocinctus*). En su estado adulto, esta especie es de color negro, de 1 a 1,5 mm de largo (Valarezo 2012). Afecta principalmente a las hojas jóvenes y brotes tiernos (Urtecho 2023). Al alimentarse perfora las células de tejido superficial y absorbe su contenido. La zona dañada presenta un aspecto tostado o carbonizado y puede causar deformación y marchitez de las hojas (Urtecho 2023).

2.6. *Antiteuchus tripterus*, importancia

La chinche *A. tripterus* es un insecto de la familia pentatomidae. El género *Antiteuchus* comprende 43 especies conocidas en todo el mundo (Fernandes y Grazia 2006). Tanto las ninfas como los adultos ocasionan lesiones en el fruto y en las ramas (Gutiérrez y Trochez 1977). Al alimentarse, las chinches ocasionan lesiones a frutos y pedúnculos expresadas como manchas negras y pústulas (Yepes 2019). Si la ocurrencia de la plaga es temprana, los frutos detienen su desarrollo, se pasman, se secan y caen (Gutiérrez y Trochez 1977). Estas lesiones detienen el crecimiento de los frutos jóvenes, los cuales se momifican. Los frutos que logran un

desarrollo avanzado no parecen afectarse por los daños de *A. tripterus* (Echeverri y León 2021).

2.7. Taxonomía de la chinche *Antiteuchus tripterus*

La chinche *A. tripterus* es clasificada por Gaibor (2016) de la siguiente manera:

Clase: Insecta

Subclase: Pterygota

Orden: Hemiptera

Suborden: Heteróptera

Familia: Pentatomidae

Género: *Antiteuchus*

Especie: *Antiteuchus tripterus*

2.8. Morfología de *Antiteuchus tripterus*

La chinche *A. tripterus* (Figura 3) es de aspecto compacto y de color gris oscuro, su cabeza es pequeña y triangular. Esta especie mide en promedio 6 mm de ancho y 10 mm de largo. Las colonias se agrupan en el pedicelo de flores y frutos (Mejía *et al.* 2017). Estas chinches son conocidas como chinches hediondas porque producen un olor desagradable por medio de glándulas odoríferas (Dellape 2021).



Figura 3. Colonia de *Antiteuchus tripterus* en *Theobroma cacao*, Tabasco, México.

2.9. Ciclo de vida de *Antiteuchus tripterus*

La hembra oviposita, en masas que contienen 28 huevos, aunque en ocasiones se presenta con 24, 26 y 27, y en algunas ocasiones 14 huevos. Esta deposita sus huevos cada 60 a 70 seg realizando movimientos laterales y frontales por cada huevo ovipositado (Umaña y Carballo 1994). Los huevos presentan forma cilíndrica y coloración blanca. Las ninfas emergen entre los 8 y 9 d y el primer estado ninfal presenta una dura de 7 a 8 días (Umaña y Carballo 1994). En total, *A. tripterus* presenta cinco estadios ninfales con una duración de 100 d (Castillo *et al.* 2020). Las hembras muestran el cuidado maternal tanto de huevos como de ninfas en primeros estadios (Castillo *et al.* 2020). Una vez completado el ultimo estado ninfal, emerge el adulto, el cual en el macho presenta una coloración negra mientras que la hembra presenta coloración negra con puntuaciones cremosas (Umaña y Carballo 1994).

2.10. Hospederos de *Antiteuchus tripterus*

Entre las especies vegetales hospedantes de *A. tripterus* están la anona (*Annona reticulata* L.), la chirimoya (*A. cherimolla* Mill), el aguacate (*Persea*

americana Mill), el árbol de pan (*Colocacia antiquorum* Schott), *Citrus* spp., el cacao (*Theobroma cacao*), la guayaba (*Psidium guajava* L.), el mango (*Mangifera indica* L.), el algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y la badea (*Passiflora quadrangularis*) (Salas 1984; Yepes 2019).

2.11. Métodos de control de *Antiteuchus tripterus*

2.11.1. Control cultural. *A. tripterus* es un insecto que prefiere zonas frescas sombreadas. Cultivos como el cacao, en su mayoría desarrollados bajo sombra y alta humedad relativa puede contribuir en la propagación del insecto. La poda y el control de sombra reduce la proliferación del insecto (Mora 2013).

2.11.2. Control químico. Para reducir las poblaciones de *A. tripterus* se ha utilizado el Malathion y el Carbaryl; el Malathion en dosis de 2 a 4 cc/l y el Carbaryl en dosis de 3 a 4 g/l (Tamayo *et al.* 2008).

2.11.3. Control biológico. Varios estados de desarrollo de *A. tripterus* son afectados por enemigos naturales, destacándose los insectos y entomopatógenos (Yepes 2019). Para el caso de los huevos, Umaña y Carballo (1994) reportan a los parasitoides *Trissolocus radix* y *Telenomus* sp. como agentes de control muy importantes que tienden a disminuir el nivel poblacional de *A. tripterus*. Así también Eberhard (1974) señala a las especies de avispa *Trissolocus bodkini* y *Phanuropsis semiflaviventris* como parasitoides de *A. tripterus* en fase de ninfal y adulto. Por otro lado, Veen (1968) reportó al hongo *Metarhizium anisoplae* como patógeno de insectos de la familia Pentatomidae.

2.12. El género *Metarhizium*, importancia y distribución

Los hongos entomopatógenos constituyen un grupo con más de 750 especies y tienen potencial como agentes de biocontrol. Cuando sus esporas se dispersan en el ambiente pueden provocar infecciones fúngicas (muscardias) y reducir significativamente las poblaciones de insectos (Pucheta *et al.* 2006). Dentro de estos, el género *Metarhizium* comprende una diversidad de especies caracterizados por producir conidios verdes que cubren el cadáver del hospedero (Nishi y Sato 2018). Los hongos del género *Metarhizium* son ubicuos y la distribución de las especies puede atribuirse a diversos factores tales como las condiciones climáticas, el tipo de hábitat y asociaciones específicas con plantas e insectos huéspedes (Brunner-Mendoza *et al.* 2019).

La especie *M. anisopliae* es uno de los agentes biológicos más importantes y estudiados para el control de varias plagas de artrópodos (Da Silva 2010). Este hongo tiene una distribución mundial desde el ártico hasta los trópicos, en insectos y en el suelo (Zimmermann 2007). Entre las principales ventajas del uso de *M. anisopliae* en el control biológico de plagas de insectos destaca la facilidad de aplicación en condiciones de campo, el bajo costo derivado de su uso y, sobre todo, el reducido impacto ambiental (Orlandelli 2011). *M. anisopliae* se ha registrado atacando una amplia diversidad de insectos considerados plagas de importancia comercial (Bernal, *et al.* 1994). En la tabla 1 se muestran las familias que afecta este hongo en los múltiples ordenes insectiles.

Tabla 1. Órdenes y familias hospedantes de *Metarhizium anisoplae* (Veen 1968)

Orden	Familia	No. Especies
Ortópteros	Acrididae, Griollotalpidae	11
Dermáptera	Forficulidae	1
Hemípteros	Cercopidae, Cicididae, Coccidae, Delphacidae, Flatidae, Míridae, Pentatomidae	21
Dípteros	Asilidae, Chironomidae, Tipulidae, Trypetidae	4
Himenópteros	Ichneumonidae, Pamphiliidae Scoliidae, Tiphidae	6
Lepidópteros	Aegeriidae, Agrotidae, Artiidae, Bombycidae Brassólidos, Crambidae, Eusomidae, galleridae, Hepialidae, Notodontidae, Phycitidae, Pyraustidae, Saturniidae, Thaumetopoeidae	27
Coleópteros	Byturidae, Carabidae, Cerambicidae, Chrysomelidae, Coccinellidae, Curculionidae, Elateridae, Lampyridae, Scarabaeidae, Scolytidae, Tenebrionidae	134

2.13. Taxonomía del género *Metarhizium*

El género *Metarhizium* fue descrito por Sorokin en 1883. De acuerdo con Mongkolsamrit *et al.* (2020), este género comprende 51 especies. Kirk (2022) clasificó este género de la siguiente manera:

Reino: Fungi

Clase: Ascomycota

Orden: Sordariomycete

Familia: Hypocreales

Género: *Metarhizium*

2.14. Morfología de *Metarhizium* spp.

Los hongos del género *Metarhizium* presentan colonias con crecimiento circular, con superficie de aspecto plano de textura variable. Las colonias inicialmente muestran una coloración blanca que posteriormente pasa por tonos amarillos, verde oliva hasta verde oscuro debido a la maduración de los conidios (Valle-Ramírez *et al.* 2022). De acuerdo con Barnett y Hunter (1998), presentan conidióforos hialinos y ramificados. Presentan fiálides solitarias, en pares o en verticilos. Los conidios son producidos en cadenas basipétalas, compactadas en columnas. Los conidios presentan forma ovoide a cilíndrica, de una sola célula, hialinos o ligeramente pigmentados, los cuales muestran un color verde olivo cuando están en masas (Figura 4).

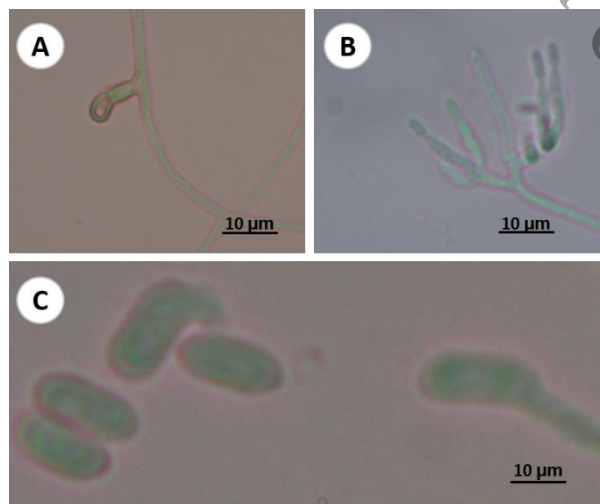


Figura 4. Estructuras de *Metarhizium* sp. A) Fiálide, B) Conidióforo, C) conidios.

2.15. Modo de acción de *Metarhizium* spp.

Las especies de *Metarhizium* tienen la capacidad de penetrar directamente la cutícula del insecto hospedero mediante la combinación de presión mecánica y enzimas que degradan la cutícula. Al adherirse al cuerpo de su hospedero, los conidios producen un tubo germinativo que, a través de la extensión y el crecimiento, dan lugar a hifas que penetran y crecen dentro del insecto, posteriormente se da la reproducción del hongo y la dispersión lo que finalmente conduce a la muerte (Perinotto *et al.* 2014; García *et al.* 2008).

La infección se inicia con el depósito de conidios en la cutícula del hospedador, seguido de la adhesión y la germinación de las esporas (Schrank y Vainstein 2010). Las zonas de adhesión son las regiones intersegmentales o zonas blandas (Ramírez 2014). Luego se produce un tubo germinativo y un apresorio, que permite al hongo la fijación sobre la cutícula y la penetración del exoesqueleto. (Monzón 2002). Mecanismos físicos y químicos están involucrados en el proceso de la penetración. En el mecanismo físico el apresorio ejerce presión sobre el exoesqueleto y rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. En el mecanismo químico, la acción enzimática degrada la cutícula, y en este proceso participan enzimas como lipasas, quitinasas y proteasas, las cuales facilitan la penetración física. (Da Silva *et al.* 2014). Además de los mecanismos físicos y químicos, estos hongos pueden penetrar el hemocele través de aperturas naturales como espiráculos, cavidad bucal y otras aberturas externas (Téllez *et al.* 2009).

Cuando el hongo ha ingresado al hemocele, el insecto puede activar mecanismos de defensa; dando lugar a la encapsulación celular, fagocitosis, melanización y producción de compuestos antimicrobianos (Ames 2004). Esta activación de mecanismos de defensa obliga al hongo a vencer el sistema inmunológico del insecto. (Ames 2004). Debido a estas estrategias, el insecto muere y el hongo termina de colonizarlo. Finalmente, bajo condiciones de temperatura y humedad óptima las hifas del hongo emergen a la superficie del cadáver donde lleva a cabo el proceso de esporulación (Téllez *et al.* 2009).

2.16. Factores que afectan a los hongos entomopatógenos

La temperatura, la humedad relativa y la radiación uv son los factores que tienen más influencia sobre el crecimiento y patogenicidad de los hongos. Estos factores también influyen en el desarrollo de epizootias (Correal 2018). La temperatura óptima para el crecimiento de la mayoría de estos hongos se encuentra entre 20 y 25 °C con infecciones y patogénesis que ocurren a temperaturas entre 15 y 30 °C (Rodríguez 2009). Así, la temperatura es relevante ya que determina la eficacia de estos hongos al incidir en su crecimiento fúngico y persistencia bajo condiciones de campo (Carrillo y Blanco 2009). Por otro lado, la humedad relativa optima para la germinación de la conidios es de 90%-100%; aunque algunas infecciones se llevan a cabo en otros niveles de humedad (Carrillo y Blanco 2009).

2.17. Importancia de la caracterización de hongos entomopatógenos

Para el desarrollo de agentes de control biológicos basados en hongos entomopatógenos es necesario seleccionar las cepas que demuestren mejores atributos como reguladores de plagas (Valle-Ramírez *et al.* 2022). En la selección de hongos entomopatógenos, la caracterización morfológica y caracterización molecular constituyen herramientas útiles (Estrada-Martínez, 2019). Además, la caracterización molecular de los hongos, mediante el análisis del ADN o del RNA permite conocer su variabilidad genética (Estrada-Martínez 2019). Por otro lado, los hongos entomopatógenos pueden presentar variabilidad intraespecífica en cuanto a especificidad, temperatura optima, velocidad de crecimiento y capacidad de producción de conidio lo cual hace necesario su caracterización fisiológica y patogénica. (Ames 2004).

2.18. Estudios de caracterización de hongos entomopatógenos

En la investigación por Gato *et al.* (2016) caracterizaron aislados cubanos de *Metarhizium* spp. para combatir al escarabajo *Cylas formicarius*. Estos autores calcularon la tasa de crecimiento y el nivel de esporulación, a diferentes temperaturas. Los aislamientos LBM-5 y LBM-10 mostraron mayor tasa de crecimiento a 20 y 30°C.

Valle *et al.* (2021) evaluaron 20 aislamientos de *Metarhizium* spp. obtenidos de insectos micosados y del suelo, para el control del salivazo. El aislamiento DAS5401 mostró mayor tasa de crecimiento.

Obando *et al.* (2013) evaluaron cepas nativas de *M. anisopliae* en relación a sus características macroscópicas, fisiológicas y patogénicas contra *Aeneolamia varia*. Estos autores reportaron a los aislamientos CCMa1008, CCMa1005 y CCMa0906 con mortalidades de entre 76.0% y 90.7% sobre el estado adulto y 75.7% en la cepa CCMa1001 en condiciones de laboratorio, asperjando 15 ml de una suspensión de conidios en concentración de 1×10^7 conidios/ml.

Manríquez *et al.* (2006) evaluaron la patogenicidad de siete aislamientos de *M. anisopliae* sobre la gallina ciega, gusano alambre y chinche hedionda a una dosis de 2×10^{13} . Las cepas CG 93-3 y CG 472 fueron los dos tratamientos con efectividad mayor al 70%

Cogley *et al.* (2020) identificaron tres aislamientos nativos de *M. anisopliae*, con base en sus características morfológicas; además, evaluaron la patogenicidad de estos aislamientos sobre larvas de *Rhipicephalus microplus*. El aislamiento Mt5 mostró mayor efectividad biológica.

En el estudio realizado por Villamizar *et al.* (2021) se caracterizaron un aislamiento de *Metarhizium novozealandicum*. Que fue reportado como nueva sepa. Este estudio incluyó la confirmación morfológica y molecular de la especie fúngica, la producción de esporas y la patogenicidad sobre *Wiseana copularis*, *Costelytra giveni* y *Plutella xylostella*. Estos autores seleccionaron al aislamiento AgR-F177 como promisorio para el desarrollo de un biopesticida.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general:

- Caracterizar y seleccionar aislamientos nativos de *Metarhizium* sp. para el control biológico de la chinche negra (*Antiteuchus tripterus*) del cacao, en Tabasco, México.

3.2. Objetivos particulares:

- Identificar morfológica y molecularmente aislamientos nativos de *Metarhizium* sp.
- Caracterizar fisiológicamente aislamientos nativos de *Metarhizium* sp.
- Evaluar la producción de conidios de aislamientos de *Metarhizium* sp. en arroz
- Caracterización la patogenicidad de aislamientos de *Metarhizium* sp. sobre (*A. tripterus*)

IV. JUSTIFICACIÓN

El cacao es mundialmente reconocido por su aportación de ingredientes en la industria alimenticia. Su importancia se extiende a áreas como la cosmética, provee divisas y empleos, y es el ingreso para los productores de cacao en el sureste. En México, Tabasco es el estado con mayor producción de cacao; sin embargo, la sustentabilidad de este cultivo se ve reducido por problemas fitosanitarios derivados de bacterias, hongos e insectos, como es el caso de la chinche *A. tripterus*. El hábito alimenticio de esta chinche amenaza la producción puesto que ataca los pedúnculos y la base de los frutos del cacao, succiona savia e inyecta toxinas, resultando en el marchitamiento y caída de los chillillos. Por otra parte, la escasa información sobre *A. tripterus* ocasiona el uso de métodos convencionales como es el caso del control químico, por lo que hace necesario la implementación de formas de control más amigables con el ambiente. Existen métodos que cumplen con este esquema; tal es el caso del control biológico. Investigaciones realizadas en otros países han demostrado la efectividad de agentes de control, como el parasitoide *P. semiflaviventris* y los hongos entomopatógenos *M. anisopliae* y *B. baussiana*. A pesar de la presencia de *A. tripterus*, en plantaciones de cacao en Tabasco, no se han realizado estudios específicos de hongos entomopatógenos, que permita su uso como una alternativa de control. Por lo anterior, en el presente trabajo se caracterizaron y seleccionaron aislamientos nativos de *M. anisopliae* con potencial de control biológico de la chinche negra (*A. tripterus*) en Tabasco, México. Los resultados de esta investigación servirán como alternativa de control *A. tripterus* en el cultivo de cacao en Tabasco.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Sitio de muestreo

Adultos micosados de la chinche *A. tripterus* se obtuvieron, mediante un muestreo dirigido (Figura 5), en una plantación de cacao ubicada en la ranchería José María Morelos y Pavón (Las Delicias), Teapa, Tabasco. El sitio de muestreo se localiza en las siguientes coordenadas: 17°38'5.1"N 92°55'48.2"W y a 10 msnm. El clima en esta zona es cálido húmedo con una temperatura de 25 °C, humedad de 84.85 y precipitación de 3900 mm (INEGI 2000). Los cadáveres micosados que se obtuvieron fueron transferidos a viales estériles y se colocaron en neveras para su transportación al Laboratorio de Entomopatógenos, en la División Académica de Ciencias Biológicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

5.2. Obtención de aislamientos

Los cadáveres se desinfestaron superficialmente en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% durante 5 min, de acuerdo con Gerónimo-Torres *et al.* (2016). Posteriormente se enjuagaron con agua destilada estéril (ADE) y se colocaron individualmente en cámara húmeda y a 25°C durante 8 días para permitir la esporulación sobre los cadáveres. Los aislamientos se multiplicaron en medio de cultivo Agar-Dextrosa Sabouraud + 0.1 de extracto de levadura (ADS + EL) y se conservaron en refrigeración hasta su uso en las diferentes pruebas de caracterización.



Figura 5. A) Colecta de *Antiteuchus tripterus* realizado en plantación de cacao ubicado en la ranchería José María Morelos y Pavón (Las delicias), Teapa, Tabasco, México. B) Adulto de *Antiteuchus tripterus* micosado por *Metarhizium* sp.

5.3. Caracterización morfológica

Los hongos que se desarrollaron sobre los cadáveres de *A. tripterus*, se aislaron y se identificaron a nivel de especie con base a las estructuras reproductivas, de acuerdo con Barnett y Hunter (1998) y Bischoff *et al.* (2009). Para la caracterización, los aislamientos crecieron en cajas de Petri con medio de cultivo Agar-Dextrosa Saboraud + 0.1% de extracto de levadura (ADS+EL), durante 14 días, para determinar las características de la colonia: tamaño, morfología y conidiación. Además, una suspensión de esporas se inoculó sobre discos de ADS de 0.5 cm de diámetro, bajo un cubreobjeto, para obtener estructuras microscópicas de cada aislamiento. Los discos inoculados se incubaron a 25 °C en una cámara húmeda durante 3-5 días. Las características microscópicas de conidióforos y conidios, se observaron bajo el microscopio de campo claro y se foto documentaron mediante digitalización de imágenes. La morfometría se realizó con el software Image Tool® 3.00. Los aislamientos se depositaron en la colección de hongos entomopatógenos del Laboratorio de Entomopatógenos de la División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.

5.4. Identificación molecular

A partir de cultivos puros de 7 días, se realizó la extracción de ADN por el método del CTAB (Doyle y Doyle, 1990) y su concentración fue estimada utilizando un espectrofotómetro (NanoDrop 2000, Thermo Scientific®). Para el análisis filogenético, secuencias parciales de genes fueron obtenidas de dos regiones y amplificadas por PCR; la región ITS1-5.8S-ITS2 del DNAr nuclear y β -tubulina. La región ITS fue amplificada utilizando los primers ITS5 (5'-gca agt aaa agt cgt aac aag g-3') e ITS4 (5'-tcc tcc gct tat tga tat gc-3') (White *et al.* 1990). La amplificación parcial del gen β -tubulina se llevó a cabo usando los primers Bt2a (5'-ggt aac caa atc ggt gct gct ttc-3') y Bt2b (5'-acc ctc agt gta gtg acc ctt ggc-3') (Glass y Donaldson 1995). Ambos genes se amplificaron bajo las siguientes condiciones de PCR: 94°C 2 min, 94-55-72 durante 30"-45"-90" 40 ciclos y una extensión final de 72°C 4'. Las reacciones de amplificación fueron llevadas a cabo en volúmenes de 25 μ L conteniendo amortiguador a 1X, MgCl₂ 1.5 mM, dNTP 0.2 mM, primers 0.4 μ M de cada uno (IDT), enzima Taq DNA polimerasa 1 unidad (Promega) y 20 ng de ADN. La cuantificación del ADN se realizó con un NanoDrop 2000, Thermo Scientific®. Los amplicones se enviaron para su secuenciación a la compañía Psomagen (EUA). Las secuencias obtenidas se compararon con secuencias de diferentes especies de *Metarhizium* del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

5.5. Caracterización fisiológica

5.5.1. Crecimiento micelial. Cultivos de cada aislamiento, de 5 días de crecimiento, se utilizaron para transferir una fracción de 5 x 5 mm del extremo de la colonia, a una caja Petri (90 mm) con medio SDA + E.L. Las cajas con el inóculo se incubaron a 25, 30, 35 \pm 1 °C. Cinco repeticiones por aislamiento y temperatura se establecieron, donde el registro micelial se realizó cada 2 días hasta que un

aislamiento cubrió todo el medio. La media del crecimiento radial (CR) del último día se utilizó para el análisis estadístico. El efecto de la temperatura se evaluó midiendo el porcentaje de incremento (INC) o inhibición (INH) del crecimiento radial; el porcentaje de INH o INC se obtuvo con la fórmula: % INH/INC = (CR a 30 °C x 100/CR a 25 °C)-100, y % INH/INC = (CR a 35 °C x 100/CR a 30 °C)-100, de acuerdo con Torres-de la Cruz *et al.* (2013).

5.5.2. Producción de conidios en medio ADS

De cada aislamiento fúngico, secciones de 5 x 5 mm, del borde de colonias de 8 días de edad, se transfirieron a cajas de Petri con ADS + E.L., las cuales se incubaron a 25, 30 y 35 °C ± 1 °C durante 16 días en oscuridad. Los conidios se cosecharon inundando el cultivo con ADE + tween 80 y raspando las esporas con espátula de acero inoxidable. La suspensión de conidios se homogenizó durante 1 min con un agitador magnético. Para separar las esporas del micelio, la suspensión se filtró con gasa clínica estéril. La producción de conidios (PdC) por aislamiento se estimó utilizando una cámara de Neubauer. Cinco repeticiones por aislamientos serán establecidas. La estimación del número de conidios ml⁻¹ se realizó a través de la fórmula propuesta por Lipa y Slizynski (1973):

$$C = (C_c) (4 \times 10^6) (F_d/80)$$

donde:

C = número de conidios,

C_c = número promedio de conidios contados en la cámara de Neubauer

F_d = factor de dilución

El efecto de la temperatura sobre la PdC en medio de cultivo ADS fue evaluado a través del porcentaje de inhibición e incremento de la PdC al pasar de 25 a 30 °C y de 25 a 35 °C, los cuales se obtuvieron con la fórmula: % INH/INC = (PdC a 30 °C x 100/ PdC a 25 °C)-100, y % INH/INC = (PdC a 35 °C x 100/ PdC. a 25 °C)-100 (Torres-de la Cruz *et al.* 2013).

5.5.3 Velocidad de germinación

Cultivos de cada aislamiento, de 18 días de crecimiento, se utilizaron para obtener una suspensión de 5×10^6 conidios ml^{-1} . De esta suspensión se depositaron 30 μl en medio SDA + E.L. Se establecieron cuatro repeticiones. Las cajas con las alícuotas de conidios se incubaron a tres temperaturas: 25, 30 y 35 °C ± 1 °C. Se registró la germinación de conidios (GDC) a partir de la sexta hora. El registro de germinación consistió en lecturas de 100 conidios, hasta la hora en que un aislamiento alcanzó el 90% de germinación. Se determinó que los conidios habían germinado una vez que el tubo germinativo alcanzó la mitad de la longitud del conidio. (Jackson *et al.* 1985).

5.6. Caracterización patogénica

Adultos de *A. tripterus* se capturaron de la misma plantación de cacao donde se obtuvieron las chinches micosadas, descrita anteriormente. Los ejemplares capturados se colocaron en envases de plástico con un fruto juvenil (chilillos) como alimento y fueron transportados al Laboratorio de Entomopatógenos, en la División Académica de Ciencias Biológicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

En el laboratorio, los insectos fueron inmersos en una suspensión de 1×10^7 conidios ml^{-1} + tween 80 por 1 min. Cinco aislamientos de *Metarhizium* más un tratamiento testigo fueron evaluados. Las chinches del tratamiento testigo se sumergieron en ADE + tween 80 (0.1%). Los adultos se depositaron en envases de

plástico. Diez adultos de *A. tripterus* conformaron una unidad experimental. Cinco repeticiones por cepa se establecieron. Los adultos tratados se mantuvieron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. La humedad se mantuvo con ADE en una torunda de algodón. Diariamente se registró la mortalidad y los insectos muertos se colocaron en una cámara húmeda para obtener esporulación., La efectividad de cada aislamiento se obtuvo con los datos de mortalidad mediante la fórmula de Abbott (1925) citada anteriormente. La mortalidad en el testigo formó parte de la fórmula de Abbott.

5.7. Caracterización cultural

5.7.1 Producción de conidios en arroz. Para evaluar la capacidad de los aislamientos se produjeron conidios en arroz. Se utilizaron 30 g de arroz contenidos en bolsa de poli papel. El arroz se humedeció con 7 ml ADE de agua destilada y las bolsas con el arroz fueron esterilizadas a 121°C durante 20 min (Porrás y Lecuona 2008). Se preparó una suspensión de conidios de 1×10^7 conidios ml^{-1} . Las bolsas con arroz fueron inoculadas con 5 ml de esta suspensión y fueron incubadas 16 d a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, con fotoperiodo 12:12. Cinco repeticiones por aislamiento fueron establecidas. Cumplido el tiempo, los 30 g de arroz se transfirieron a 150 ml de ADE + tween 80. Se agitó la suspensión durante 10 min y se filtró con gasa clínica estéril. El total de conidios por aislamiento se estimó con una cámara de Neubauer. Se estimó la PdC g^{-1} a través de la fórmula de Lipa y Slizynki (1973) descrita anteriormente.

5.8 Análisis estadístico

Para el análisis filogenético, las secuencias de ADN se alinearon con MUSCLE (Edgar, 2004) implementado en MEGA-X (Kumar *et al.*, 2018), y se concatenaron con SeaView 4.7 (Gouy *et al.*, 2010). Se utilizó jModelTest v2 (Darriba *et al.*, 2012) para identificar el modelo de evolución de nucleótidos más apropiado según el criterio de información de Akaike. El análisis filogenético se realizó con IQ-TREE v2 (Minh *et al.*, 2020) que implementa el algoritmo de Máxima Verosimilitud en el portal CIPRES Science Gateway v3.3. (Miller *et al.*, 2011) Los árboles filogenéticos fueron visualizados y editados con ItoI (Letunic *et al.* 2021).

Los datos obtenidos del CM, PdC en medio SDA, PdC en arroz y de la mortalidad, se analizaron bajo un diseño completamente al azar, con cinco tratamientos (aislamientos). Antes del análisis, los datos de mortalidad fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción. Los datos del crecimiento micelial, producción de conidios en medio SDA y PdC en arroz se transformaron a $\log(x + 1)$. Posteriormente se realizó la comparación de tratamientos mediante análisis de varianza ($P \leq 0.05$) y una prueba Post-hoc con la técnica de Tukey mediante SAS® (1998). El tiempo en que ocurrió el 50 y el 90% de la GDC (TG₅₀ y TG₉₀) se estimó mediante regresión logística y el paquete estadístico SAS® (1998).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Identificación morfológica

Un total de cinco aislamientos fúngicos se obtuvo a partir de adultos micozados de *A. tripterus*, en condiciones de campo. Todos los aislamientos presentaron colonias con crecimiento circular, con superficie de aspecto plano de textura variable. Colonias con una coloración blanca que se tornó de verde oliva hasta verde oscuro debido a la maduración de los conidios (Figura 6). Conidióforos hialinos y ramificados. Fialides solitarias, en pares o en verticilos. Conidios producidos en cadenas basipétalas, cilíndricos, hialinos o ligeramente pigmentados, color verde olivo en masas (Figura 4). Lo anterior coincidió con Barnett y Hunter (1998) para el género *Metarhizium*. Los conidios midieron $5-8.15 \times 2-3.08 \mu\text{m}$ (Tabla 2). De acuerdo con Bischoff *et al.* (2009), los conidios son el rasgo que de forma confiable permite distinguir entre especies de *Metarhizium*. Sin embargo, Bischoff y colaboradores (2019) encontraron que cinco especies de *Metarhizium* se superponen en tamaño y forma: *M. anisopliae*, *M. brunneum*, *M. lepidiotae*, *M. pingshaense* y *M. robertsii*. Por lo tanto, no fue posible distinguir el taxa específico basado en la morfología de los conidios.

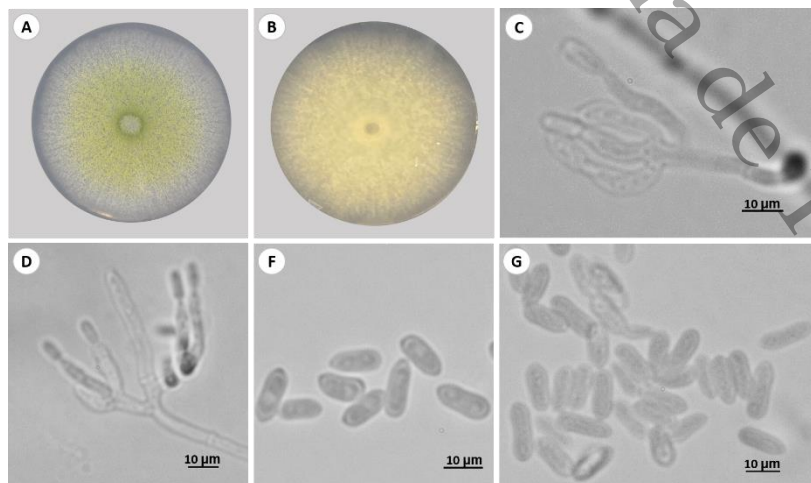


Figura 6. Morfología de *Metarhizium* sp. A) Colonia en medio PDA de 7 días de edad, B) Reverso, C y D) Conidióforos, F y G) Conidios.

Tabla 2. Mediciones de conidios de aislamientos de *Metarhizium* sp. obtenidos de adultos de *Antiteuchus tripterus* micosados, en *Theobroma cacao*, Tabasco, México

Taxón	Conidio (µm)	Descripción colonia	Referencia
<i>Metarhizium</i> sp. (TCCH2)	5.2–8.1 x 2.0–2.9	Blanco-amarillo-verdoso	Autor
<i>Metarhizium</i> sp. (TCCH5)	5.0–8.0 x 2.0–2.9	Blanco-amarillo-verdoso	Autor
<i>Metarhizium</i> sp. (TCCH7)	5.0–7.8 x 2.0–3.0	Blanco-amarillo-verdoso	Autor
<i>Metarhizium</i> sp. (TCCH8)	5.0–8.1 x 2.0–2.9	Blanco-amarillo-verdoso	Autor
<i>Metarhizium</i> sp. (TCCH9)	5.0–8.1 x 2.0–2.9	Blanco-amarillo-verdoso	Autor
<i>Metarhizium anisopliae</i>	5.0–7.0 x 2.0–3.5	Blanco-amarillo-verdoso	Bischoff <i>et al.</i> (2009)
<i>M. lepidotae</i>	5.0–7.0 x 2.0–3.5	Blanco-amarillo-verdoso	Bischoff <i>et al.</i> (2009)
<i>M. pingshaense</i>	4.5–5.0 x 2.0–3.5	Blanco-amarillo-verdoso	Bischoff <i>et al.</i> (2009)
<i>M. robertsii</i>	5.0–7.5 x 2.0–3.5	Blanco-amarillo-verdoso	Bischoff <i>et al.</i> (2009)
<i>M. brunneum</i>	4.5–8.0 x 2.0–3.0	Blanco-amarillo-verdoso	Bischoff <i>et al.</i> (2009)
<i>M. brunneum</i>	5.5–8.0 x 2.0–3.0	Oliváceo	Mongkolsamrit <i>et al.</i> (2020)

6.2. Identificación molecular

Los aislamientos TCCH5, TCCH7 y TCCH8 fueron identificados mediante secuenciación de ITS y β -tubulina. El árbol filogenético obtenido con las secuencias de los tres aislamientos de *Metarhizium* y otras secuencias de especies de *Metarhizium* obtenidas del GeneBank, se muestran en la figura 5. El análisis *bootstrap* mostró ramas principales que separaron significativamente las secuencias de las diferentes especies utilizadas. Con base en los valores significativos de *bootstrap*, las secuencias de tres aislamientos nativos de *Metarhizium*, del presente estudio, correspondieron a la especie *M. brunneum*, con un soporte del 88% (Figura 7). La especie *M. brunneum* ha sido reportada en diferentes países, de diferentes continentes, incluyendo México. Así también ha sido reportada en diferentes insectos hospederos, de diferentes órdenes: Coleóptera,

Diptera, Isóptera, Himenóptera, Lepidóptera, Orthóthera y Hemíptera (Bischoff *et al.* 2009). En el orden Hemíptera, *M. brunneum* ha sido reportado sobre la chinche *Euschistus heros* (Pentatomidae) (Resquín-Romero *et al.* 2020). *M. brunneum* también ha sido reportado sobre *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) (Yousef *et al.* 2013) y *Agriotes* spp. (Razinger *et al.* 2018). A nuestro conocimiento, este es el primer reporte de *M. brunneum* sobre *A. tripterus* (Pentatomidae).

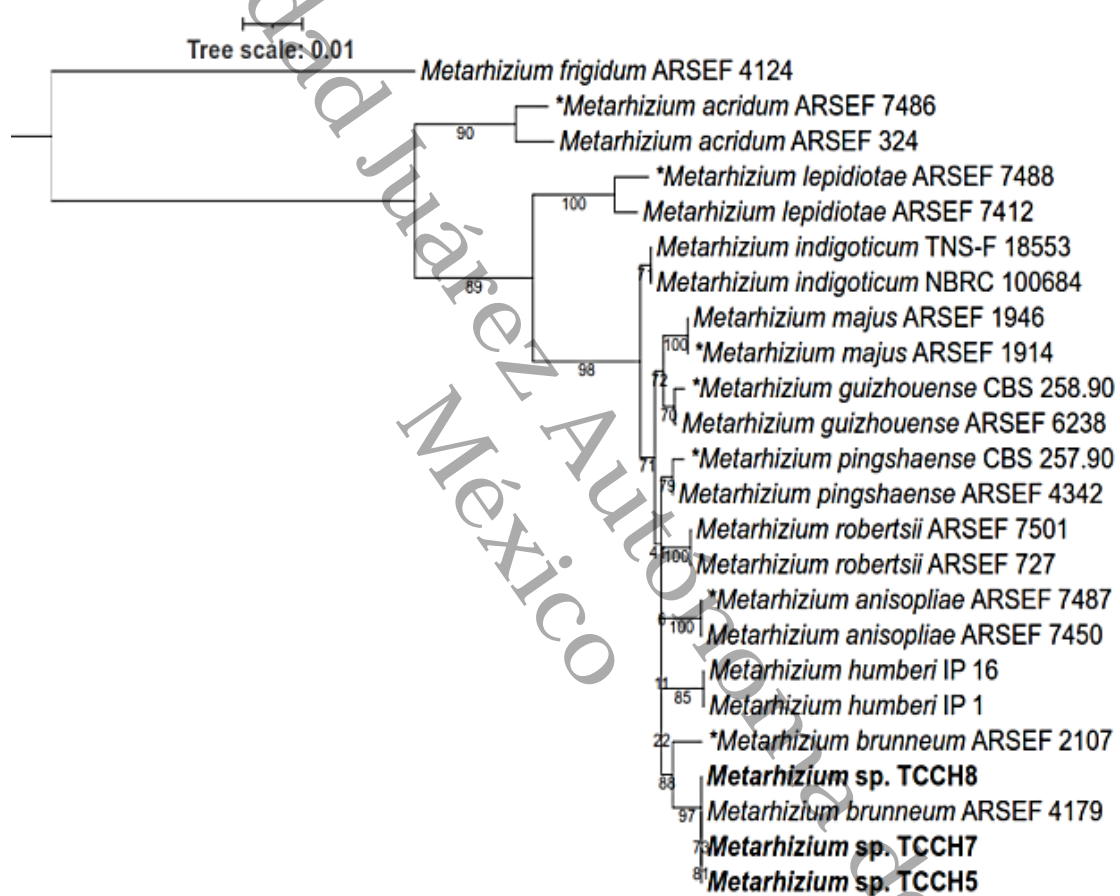


Figura 7. Análisis filogenético de máxima verosimilitud de secuencias concatenadas (ITS y TUB) de especies de *Metarhizium* spp., basado en el modelo (TIM2 + G: Transition model and unequal base freq + Discrete gamma model), especímenes tipo marcados con asterisco. Los aislados **TCCH5**, **TCCH7** y **TCCH8** se agrupan con especies de *M. brunneum* con un alto porcentaje de soporte de 88 %.

6.3. Caracterización fisiológica

6.3.1. Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial. Se registraron diferencias significativas en el CM de los aislamientos cuando se sometieron a 25 °C ($F=4,60$ $P < 0,0085$) (Tabla 3). Los aislamientos con mayor crecimiento micelial fueron TCCH8 (17,27) y TCCH9 (17.21), sin diferencias significativas con las cepas CH7 y TCCH2. El aislamiento con menor crecimiento micelial fue TCCH5 con 16,32 mm. A 30 °C no se encontraron diferencias significativas ($F=221$ $P < 0,1044$) en el crecimiento micelial (Tabla 3). El rango de crecimiento fue de 5.17 – 5.81 mm. A esta temperatura el crecimiento no mostró variación significativa entre aislamientos; sin embargo, todas las cepas mostraron disminución del crecimiento micelial, la cual fluctuó de 64.7% hasta 69.1 %, al pasar de 25 a 30 °C. Estos resultados, que reportamos en este trabajo difieren con los hallazgos de Torres-de la Cruz, *et al.* (2013) quienes reportaron inhibición de 0 al 27 % en aislamientos nativos de *M. anisopliae*.

Cuando los aislamientos se incubaron a 35 °C, el CM de todos los aislamientos se inhibió al 100%, por lo que 35 °C resultó limitante del CM. Cuando Torres- de la Cruz, *et al.* (2013) evaluaron del crecimiento micelial de *M. anisopliae* a 35°, la inhibición del crecimiento fue en el rango de 74,1% hasta 86,3%. Así, el rango de temperatura para el crecimiento de las cepas nativas de *M. brunneum* fue de 25 a 30 °C, en concordancia con lo reportado para *M. anisopliae* por Torres- de la Cruz, *et al.* (2013) y Toriello *et al.* (2008). Al respecto, Ortiz-Catón *et al.* (2011) mencionan que el mejor desarrollo de los hongos entomopatógenos se obtiene de 20 a 28°C; por lo cual, el desarrollo obtenido por *M. brunneum* en este estudio, puede ser explicado por el origen tropical de estas cepas. Por otro lado, Gebremariam *et al.* (2021) resaltan la importancia del crecimiento micelial como una variable que permite seleccionar aislamientos promisorios como agentes de biocontrol.

Tabla 3. Desarrollo micelial e inhibición o incremento de cepas nativas de *Metarhizium* sp., obtenidos de adultos de *Antiteuchus tripterus*, en el agroecosistema de cacao, Tabasco, México.

Cepas	Desarrollo micelial						Inhibición (-) 0			
	25		30		35		Incremento (+) (%)			
	Media	Dst	Media	Dst	Media	Dst	25-30°C	25-35°C		
TCCH2	16.46	0.24	AB	5.81	0.77	A	0	0	-64,70	-100
TCCH5	16.32	0.30	B	5.42	0.44	A	0	0	-66,79	-100
TCCH7	16.75	0.49	AB	5.17	0.19	A	0	0	-69,13	-100
TCCH8	17.27	0.69	A	5.33	0.17	A	0	0	-69,14	-100
TCCH9	17.21	0.35	A	5.80	0.34	A	0	0	-66,30	-100

6.3.2. Velocidad de germinación. Con base en el TG_{50} se observó variabilidad en la velocidad de germinación de los aislamientos nativos de *M. brunneum*, tanto entre aislamientos, como entre temperaturas. A 25 °C, el aislamiento con el mayor TG_{50} fue TCCH2, con un tiempo promedio de 8,8 h. El aislamiento con el menor TG_{50} fue TCCH9 con 7.8 h (Tabla 4). Estos resultados son similares a los reportados por Torres-de la Cruz *et al.* (2013), quienes reportaron TG_{50} de 7.4 a 8.2 h para aislamientos nativos de *M. anisoplae*, incubados a 25°C. Sin embargo, el TG_{50} reportado para *M. brunneum* en el presente estudio es menor al reportado para aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* por Gerónimo-Torres *et al.* (2016) quienes reportaron TG_{50} de 12.6 a 15.9 h. A 30 °C, el TG_{50} no se modificó de forma relevante, donde la mayor TG_{50} fue obtenida por la cepa TCCH5,

con 9,5. A esta temperatura, la cepa con el menor TG₅₀ fue TCCH2 con 7.8 h, la cual mejoró su tiempo de germinación, respecto al TG₅₀ obtenido a 25 °C (Tabla 4). Cuando el TG₅₀ se evaluó a 35 °C, todas las cepas incrementaron su tiempo de germinación, similar a lo reportado por Torres-de la Cruz *et al.* (2013) para *M. anisopliae*. La cepa con el mayor TG₅₀ fue TCCH2 con 21.9 h y la cepa con menor TG₅₀ fue TCCH5 con 12.7 h. (Tabla 4).

En relación al TG₉₀, a 25 °C la cepa con el mayor TG₉₀ fue TCCH8 con 10.9 h. La cepa con menor TG₉₀ fue TCCH9 con 9.6 h. (Tabla 4). A 30 °C, las cepas con mayor y menor TG₉₀ fueron TCCH5 y TCCH2 con tiempos de 12.3 y 9.5 h, respectivamente. Así también, a 35°, estas dos cepas mantuvieron los mayores y menores TG₉₀, con 27.7 y 14.6 h, respectivamente. A esta temperatura, todos los aislamientos incrementaron su tiempo de germinación, respecto al TG₉₀ obtenido a 30 °C. Aunque todos los aislamientos de *M. brunneum* germinaron en las temperaturas 25 y 35°C, el rango de temperatura óptimo para la GDC de estas cepas es de 25 a 30 °C (Tabla 4 y Tabla 5). De acuerdo con Faria *et al.* (2015), la velocidad de germinación también es un factor relevante para seleccionar unas cepas eficientes como agentes de control biológico.

Tabla 4. Tiempo de germinación del 50% de los conidios (TG₅₀) de *Metarhizium brunneum* evaluados a 25, 30 y 35°C.

Cepas	TG ₅₀ (h)					
	25		30		35	
	Media	RV	Media	RV	Media	RV
TCCH2	8,8	8.6-9.1	7,8	7.8-8.0	21,9	18.6-38.5
TCCH5	8,3	8.1-8.6	9,5	9.3-9.7	12,7	12.7-12.9
TCCH7	8,2	8.1-8.3	8,6	8.5-8.9	13,8	13.7-13.9
TCCH8	8,5	8.2-8.8	8,5	8.3-8.7	14,1	13.9-14.4
TCCH9	7,8	7.5-8.1	8,0	7.9-8.1	15,0	14.8-15.3

Tabla 5. Tiempo de germinación del 90% de los conidios (TG₉₀) de *Metarhizium brunneum*, evaluados a 25, 30 y 35°C.

Cepas	TG ₉₀ (h)					
	25		30		35	
	Media	RV	Media	RV	Media	RV
TCCH2	10,7	10.34-11.41	9,5	9.38-9.78	27,7	21.68-64.62
TCCH5	10,5	10.03-11.29	12,3	11.87-12.94	14,6	14.47-14.88
TCCH7	9,7	9.59-9.96	10,9	10.53-11.62	15,6	15.46-15.97
TCCH8	10,9	10.30-12.11	10,9	10.44-11.57	16,1	15.76-16.77
TCCH9	9,6	9.12-10.38	10,0	9.85-10.34	17,4	16.99-18.07

6.3.2. Producción de conidios en medio ADS + E.L. A 25 °C no hubo diferencias significativas ($F = 1,25$ $P < 0,3340$) en la producción de conidios en medio SDA + E.L. (Tabla 6). Sin embargo, los aislamientos con mayor producción fueron TCCH2 y TCCH9 con 9.7×10^7 y 9.0×10^7 conidios, respectivamente. Esta producción de conidios es similar a la reportada por Valle-Ramírez (2022) para aislamientos de *Metarhizium* spp. A 30 °C, hubo diferencias significativas entre aislamientos ($F = 7.40$ $P > 0.0008$) (Tabla 6). Las cepas con mayor producción de conidios fueron TCCH8 y TCCH9 con 1.5×10^7 y 7.5×10^6 conidios, respectivamente. La cepa con menor producción de conidios fue TCCH7 con 3.7×10^6 conidios. A esta temperatura, la producción de conidios en medio SDA + E.L. disminuyó con relación a la producción obtenida a 25°C. Esta disminución estuvo en el rango de 76.2 al 94.7%, donde la cepa menos afectada por la temperatura fue TCCH8. Reducción en la producción de conidios, al pasar de 25 a 30 °C, también fue reportada por Gerónimo- Torres *et al.* (2016) para aislamientos nativos de *B. bassiana*. En esta investigación, los aislamientos que se sometieron a 35 °C, no presentaron CM ni PdC, lo cual concuerda también con Gerónimo- Torres *et al.* (2016) quienes reportaron la inhibición del crecimiento y producción de conidios de aislamientos de *B. bassiana* a 35°C. Por lo anterior el rango de temperatura para esporulación de cepas nativas de *M. brunneum* fue de 25 a 30 °C; sin embargo, la temperatura óptima fue 25 °C.

Tabla 6. Producción de conidios de *M. brunneum* cultivados en arroz y medio ADS + E.L.

Cepas	Arroz		Producción de conidios x 10 ⁷				SDA +EL 30°C		Inhibición (-) 0	
	Media	Dst	SDA +EL 25°C		Dst	Media	Dst	Incremento (+) (%)		
			Media	Dst				25-30°C	25-35°C	
CH2	19.880	0.331	B	97081250	0.198	A	5111667	0.266	BC	-100
CH5	20.383	0.256	A	85462500	0.254	A	4930000	0.149	BC	-100
CH7	20.406	0.251	A	84750000	0.329	A	3752000	0.366	C	-100
CH8	20.109	0.222	AB	63989583	0.235	A	15177333	0.425	A	-100
CH9	19.650	0.162	C	90416667	0.351	A	7545167	0.148	AB	-100

6.4. Caracterización cultural

Producción de conidios en arroz. Hubo diferencias significativas ($F = 8.42$ $P > 0.0004$) en la producción de conidios en arroz (Tabla 6). Las cepas que mostraron mayor producción de conidios fueron TCCH5, TCCH7 y TCCH8 con 2.03×10^8 , 2.04×10^8 y 2.01×10^8 esporas/g de arroz, respectivamente. El aislamiento con menor producción de conidios en arroz fue TCCH9. De acuerdo con García *et al.* (2015), la PdC es un factor relevante para el éxito del control biológico con hongos entomopatógenos. Por otro lado, las cepas que presentaron mayor PdC en arroz no fueron los que mostraron mayor PdC en medio ADS + EL. De acuerdo con Cova *et al.* (2009), el arroz es el sustrato más empleado para la reproducción hongos entomopatógenos a nivel comercial.

6.5. Caracterización patogénica

Diferencias significativas ($F = 5.72$ $P > 0.0053$) se encontraron en la efectividad de los aislamientos de *M. brunneum* sobre *A. tripterus*. Todos los aislamientos mostraron patogenicidad sobre *A. tripterus*. Los aislamientos que ocasionaron el mayor porcentaje de mortalidad fueron TCCH5, TCCH7 y TCCH8, sin diferencias significativas entre ellos (figura 8) sin embargo, los valores más altos de mortalidad se obtuvieron con los aislamientos TCCH5 y TCCH8, con valores de 96.4 y 89.7 %, a los 8 d después de la inoculación. El aislamiento que causó la menor mortalidad fue TCCH2 con el 72.2%. Estos resultados concuerdan con Resquín-Romero *et al.* (2020), quienes evaluaron aislamientos de *M. brunneum* sobre la chinche *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae); estos autores reportaron mortalidad del 83.3 al 100% sobre ninfas y adultos, a los 8 d después de la inoculación. Aislamientos de *M. brunneum* también han causado mortalidad sobre otras especies de insectos, tales como *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) (60 % de mortalidad a los 8.8 d) y *Agriotes* spp. (44.2 % de mortalidad a los 44.6 d) (Yousef *et al.* 2013; Razinger *et al.* 2018). Por otro lado, aislamientos de *M. anisopliae* también han mostrado efectividad sobre las chinches *Nezara viridula* y

Dichelops melacanthus (Hemíptera: Pentatomidae) (100% de efectividad 8 a 10 días) (Abdel-Raheem *et al.* 2011; Groth *et al.* 2017).

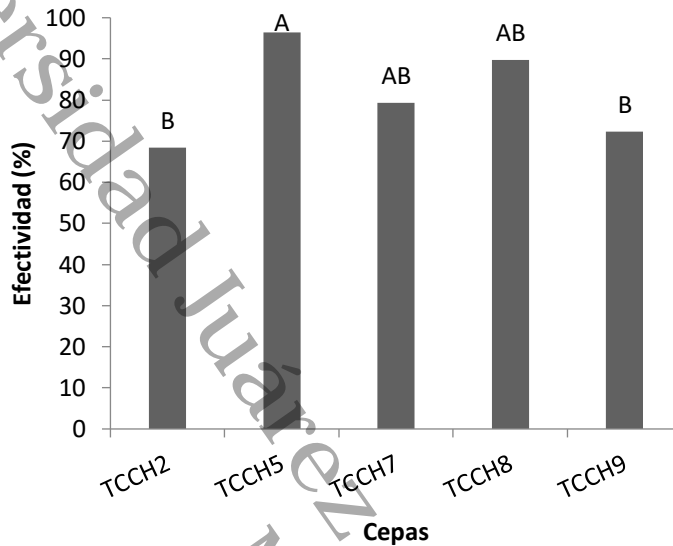


Figura 8. Efectividad porcentual de los aislamientos nativos de *M. brunneum* sobre adultos *A. tripterus*.

De acuerdo con Barrios *et al.* (2016), para la obtención de hongos entomopatógenos útiles como bioplagicidas es necesario seleccionar las cepas más promisorias, que puedan ejercer una regulación importante de la plaga de interés. Para ello, diversos atributos de los aislamientos han sido utilizados, tales como la virulencia, la producción de inóculo, el crecimiento, la esporulación y la tolerancia a condiciones ambientales adversas (García *et al.* 2015). Con base en lo anterior, en esta investigación, los aislamientos más promisorios fueron TCCH5 y TCCH9. Diferentes estudios han demostrado la eficiencia de aislados nativos de hongos entomopatógenos sobre plagas en condiciones locales (Hernández-Trejo *et al.* 2019; Clifton *et al.* 2019).

VII. CONCLUSIONES

En el presente estudio se confirmó a la especie *M. brunneum* como agente causal de la muscardina verde sobre *A. tripterus* en plantaciones de cacao de Tabasco, México. Los cinco fungicos evaluados mostraron patogenicidad sobre *A. tripterus*. Todos los aislamientos de *M. brunneum* presentaron variabilidad en el desarrollo micelial, VG, PdC y patogenicidad. Los aislamientos nativos de *M. brunneum* presentaron un rango de temperatura favorable de 25-30 °C. Con base a las características evaluadas, los aislamientos más promisorios como agentes de control de *A. tripterus* fueron TCCH5 y TCCH9.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

VIII. LITERATURA CITADA

- Abbott WS (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Entomol* 18: 265-267.
- Abdel-Raheem MA, Ragab ZA, Abdel-Rhman IE (2011) Effect of entomopathogenic fungi on the green stink bug, *Nezara viridula* L. in sugar-beet in Egypt. *Bull. NRC* 36: 145-152.
- Aguilera-Cogley VA, Jaén-Torrijos M, Ávila-Rodríguez LY, Herrera-Vásquez JÁ, Jaén-Sanjur JN, Barba-Alvarado AA (2020) Identificación y virulencia de *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) como agente de control biológico de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) en Panamá. *Idesia* 7: 59-65.
- Ames T, Cañedo V (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Primera edición. Lima, Perú. 62P.
- Armijos, JFM, Guerrero, JNQ, Batista, RMG (2020) Análisis de la diversidad morfológica de cacao (*Theobroma cacao*. L) del jardín clonal de la Universidad Técnica de Machala. *Agroecosistemas* 8: 45-57.
- Avendaño, CH (2021) La producción de cacao en México https://comisiones.senado.gob.mx/relext_alyc/docs/cacao/8.pdf. Fecha de consulta 8 de diciembre de 2022.
- Barnett HL, Hunter BB (1998) Illustrated genera of imperfect fungi. St. Paul, Minnesota, USA: The American Phytopathological Society.
- Barrios CE, Bustillo AE, Ocampo KL, Angel-Reina M, Lorena-Alvarado H (2016) Eficacia de hongos entomopatógenos en el control de *Leptopharsa gibbicarina* (Hemiptera: Tingidae) en palma de aceite. *Revista Colombiana de Entomología* 42: 22-27.

- Bernal UMG, Bustillo PAE, Posada FFJ (1994) Virulencia de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y su eficacia en campo sobre *Hypothenemus hampei*. Revista Colombiana de Entomología 20: 225-228.
- Bischoff JF, Rehner SA, & Humber RA (2009) A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. Mycologia 101: 512-530.
- Brunner-Mendoza C, Reyes-Montes, MDR, Moonjely S, Bidochka MJ, Toriello C (2019) A review on the genus *Metarhizium* as an entomopathogenic microbial biocontrol agent with emphasis on its use and utility in Mexico. Biocontrol Science and Technology 29: 83-102.
- CAAFF (2021) El cacao, *Theobroma cacao*. Chihuahua, México. <https://caaff.com.mx/noticias/el-cacao-theobroma-cacao>. Fecha de consulta 2 de febrero de 2023
- Caro-López E (2017) Manejo biorracional de mosca blanca (*Bemisia tabaco Gennadius*) en Chile bell pepper. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán Sinaloa.
- Carrillo-Rayas MT, Blanco-Labra A (2009) Potencial y algunos de los mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga. Acta universitaria 19: 40-49.
- Castillo-Carrillo PS, Sernaqué-Cortez A, Purizaga-Preciado JL (2020) Registro del chinche del cacao *Antiteuchus tripterus* (Fabricius, 1787) (Hemiptera: Pentatomidae), en Tumbes-Perú. Museo Natural De Historia Natural Del Paraguay 24:15-20.
- CDERSSA (2020) La producción y el comercio del cacao y principales derivados en México. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. Ciudad de México. 20p.
- CEDRSSA (2020) Industria del cacao en México. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. Ciudad de México. 4p.

- Cermeli M, Morales P, Godoy F, Romero R, Cárdenas O (2002) Presencia de la cochinilla rosada de la cayena *Maconellicoccus hirsutus* (Green)(Hemiptera: Pseudococcidae) en Venezuela. *Entomotropica* 17: 103-105.
- Chicas JMS, Pérez D, Serrano-Cervantes L, Parada-Jaco ME, Joyce AL, Maldonado-Santos EJ, Lovo-Lara LM (2019) Insectos como plagas potenciales del cacao (*Theobroma cacao* L.) en El Salvador. *Revista Minerva* 2: 117-134.
- Clifton EH, Cortell J, Ye L, Rachman T, Hajek AE (2019) Impactos de la infección por *Metarhizium brunneum* F52 en el rendimiento de vuelo de los escarabajos asiáticos de cuernos largos, *Anoplophora glabripennis*. *Más uno* 14: e0221997.
- CONABIO (2018). *Theobroma cacao*. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/68-sterc03m.pdf. Fecha de consulta 12 de febrero de 2023.
- Correal CE, Torres LAT, Rivero LFV, Pardey AEB, Mogollón MVZ, Prado AMC (2018) Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga. COTES, AM Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros. Mosquera, Colombia: Agrosavia. 34p.
- Cortez M, Ortiz G, Carlos F, Cappello G, De La Cruz A (2013) Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae* y su patogenicidad hacia *Aeneolamia postica*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología* 39: 40-46.
- Cortez-Madrigal H, Martínez-López, MC, Reyes-Izquierdo F, Ortega-Arenas LD (2008) Primer registro de *Lecanoideus floccissimus* (Hemiptera: Aleyrodidae) en cacao de Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología* 34: 33-44
- COVA LJ, SCORZA V, GARCÍA E, CAÑIZÁLEZ M, GUEDEZ C, MAFFEY M, MEDINA M (2009) Patogenicidad in vitro de *Beauveria brongniartii* (Sacc.)

- Petch en *Musca domestica* (L.) como posible estrategia de control biológico en áreas ganaderas, Instituto de Investigaciones Experimentales “José Witremundo Torrealba” Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 27: 113-120.
- Da Silva WOB, Santi L, Schrank A, Vainstein MH (2010) *Metarhizium anisopliae* lipolytic activity plays a pivotal role in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infection. *Fungal Biology* 114: 10-15.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and high-performance computing. *Nature methods* 9: 772.
- Dellapé G (2021) Actualización de la distribución de las chinches (Hemiptera: Pentatomidae) de Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 80: 23-32.
- Dostert N, Roque J, Cano A, La Torre M, Weigend MI, Luebert F (2012) Hoja botánica: Cacao. *Theobroma cacao* L. <https://repositoriodigital.minam.gob.pe/handle/123456789/185>. Fecha de consulta 12 de enero de 2023
- Doyle JJ, Doyle JL 1990 Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15. Fang, G., S. Hammar and R. Rebecca. 1992. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA. *BioTechniques* 13:52-56.
- Eberhard W (1974) Insectos y Hongos que Atacan a la Chinche del Cacao, *Antiteuchus tripterus*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 29: 65-72.
- Echeverri J, León R (2021) El manejo integrado de las plagas del cacao (*Theobroma cacao* L.). Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. http://www.platicar.go.cr/images/buscador/fichas-tecnicas/CACAO/02_El_manejo_integrado_de_las_plagas_1.pdf. Fecha de consulta 15 de enero de 2023

- Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research* 32: 1792-1797.
- Estrada-Martínez ME (2019) Utilización de hongos entomopatógenos para el control biológico de artrópodos plagas agrícolas. *Revista Científica Agroecosistemas* 7: 134-139.
- Faria M, Lopes RB, Souza DA, Wraight SP (2015) Conidial vigor vs. viability as predictors of virulence of entomopathogenic fungi. *Journal of Invertebrate Pathology* 125: 68-72.
- Fernandes JAM, Grazia J (2006) Revisão do gênero *Antiteuchus* Dallas (Heteroptera, Pentatomidae, Discocephalinae). *Revista Brasileira de Entomologia* 50: 165-231.
- Fernando L (2022) Incidencia y severidad de daños de insectos plaga del cacao (*Theobroma cacao* L.) en la finca “el gran chaparral” cone-yaguachi. Tesis de doctorado. Universidad agraria del Ecuador.
- Gaibor V (2016) Efecto de la aplicación de tres bioinsecticidas para el control de la chinche negra (*Antiteuchus tripterus*) en el cacao. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador 1-67p.
- García MAG, García SC, Gordillo JML, Martínez RFM (2008) Hongos entomopatógenos como una alternativa en el control biológico. *Kuxulkab'* 15
- García-Ortiz N, Tlecuitl-Beristain S, Favela-Torres E, Loera, O (2015) Production and quality of conidia by *Metarhizium anisopliae* var. *lepidiotum*: critical oxygen level and period of mycelium competence. *Applied microbiology and biotechnology* 99: 2783-2791.
- Gato-Cárdenas Y, Márquez-Gutiérrez ME, Baró-Robaina Y, Porrás-González Á, Ulloa-Martín Y, Quesada-Mola Y (2016) Caracterización de aislados cubanos del complejo de especies *Metarhizium anisopliae* con actividad

- patogénica frente a *Cylas formicarius Fabricius* (Coleoptera: Brentidae). *Revista de Protección Vegetal* 31: 50-56.
- Gebremariam A, Chekol Y Assefa F (2021) Phenotypic, molecular, and virulence characterization of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) Vuillemin, and *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin from soil samples of Ethiopia for the development of mycoinsecticide. *Heliyon* 7.
- Gerónimo-López V, Sánchez-Soto S, Bautista-Martínez N, Pérez de la Cruz M, Mendoza-Hernández JHR (2013) Fluctuación poblacional de *Clastoptera laenata* (Hemiptera: Clastopteridae) en el cultivo del cacao en Tabasco, México. *Fitosanidad* 17:131-137. ISSN: 1562-3009. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209129856002>. Fecha de Consulta 3 de Julio de 2023.
- Gerónimo-Torres JDC, Torres-de-La-Cruz, M, Cruz MPDL, de-La-Cruz-Pérez, A, Ortiz-García CF, Cappello-García S (2016) Caracterización de aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y su patogenicidad hacia *Hypothenemus hampei*, en Tabasco, México. *Revista Colombiana de Entomología* 42: 28-35.
- Glass NL, Donaldson G (1995) Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous Ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 1323–1330.
- Gómez A, Ramos G (2005) La chinche negra del cacao. *INIA Divulga* 4: 2-3
- Gouy M, Guindon S, Gascuel O (2010) SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular biology and evolution* 27: 221-224.
- Groth MZ, Bellé C, Zimmer G, Groth MZ, Edu Kaspary T, Pimentel JR, Zimmer PD (2017) Control of wheat stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in southern Brazil using the fungus' *Metarhizium anisopliae*'. *Australian Journal of Crop Science* 11: 360-366.

- Gutiérrez B, Tróchez A (1977) Estudio sobre plagas de las anonáceas en el valle del cauca. *Revista Colombiana de Entomología* 3: 39-47.
- Hernández-Lara PU, Ramírez-Guillermo MA, Ramos-Hernández, E (2020) Ciclo biológico de la cochinilla rosada del hibisco (*Maconellicoccus hirsutus*)(Green)(Hemiptera: Pseudococcidae) en plántulas de cacao. *Revista ciencia e innovación* 3: 395-402.
- Hernandez-Trejo A, Estrada-Drouaillet B, Lopez-Santillan JA, Rios-Velasco C, Rodríguez-Herrera R, Osorio-Hernández E (2019) Effects of native entomopathogenic fungal strains and neem extract on *Spodoptera frugiperda* on Maize. *Southwestern entomologist* 44: 117-124.
- Imán-Correa SA (2019) Manual de manejo agronómico del cultivo de cacao nativo (*Theobroma cacao* L.) en la región Loreto. 47p.
- INEGI (2000). Cuaderno estadístico municipal. Teapa, Tabasco. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, INEGI. Villahermosa, Tabasco. 77.
- INIAP (2019) Afidios o pulgones. Colombia. <https://eva.iniap.gob.ec/web/wp-content/uploads/2019/03/plagas.pdf>. Fecha de consulta 19 de julio de 2023.
- Jackson CW, Heale JB, Hall RA (1985) Traits associated with virulence to the aphid *Macrosiphoniella sanborni* in eighteen isolates of *Verticillium lecanii*. *Annals of Applied Biology* 1: 39-48.
- Jara E (2022) Efecto de alternativas agroecológicas en el control de chinches plaga en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) Doctoral dissertation. UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR.
- Jiménez-de la Cruz E, Sánchez-Soto S (2018) Eficiencia de tres colores trampa adhesiva para la captura de adultos de *Clastoptera laenata* Fowler, 1898 (Hemiptera: Clastopteridae), plaga del cacao en Tabasco, México. *Revista Nicaragüense de Entomología* 151: 2-11.

- Kirk PM (2022) Species Fungorum In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life. Netherlands. <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/42CWH>. Fecha de consulta 18 de diciembre de 2022.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution* 35: 1547.
- Letunic I, Khedkar S, Bork P (2021) SMART: recent updates, new developments and status in 2020. *Nucleic acids research* 49: 458-460.
- Márquez JM, López E, Ralda G, Contreras H, Maldonado D (2006) Evaluación de 7 Cepas de *Metarhizium* y 2 Nematodos Entomopatógenos para el Control de Chinche Hedionda (*Scaptocoris talpa*). *Campo. Finca Las Delicias (Pantaleón)*. 2005. *Cengicana* 183-193
- Martínez-Avalados JG, Lara M, Gaona G, Sánchez-Ramos G (2012) Primer registro de *Clastoptera* sp. (Hemiptera: Cercopidae) en *Harpalyce arborescens* (Fabaceae) del bosque tropical deciduo de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 83: 1233-1236.
- Mejía-Córdoba CA, Castro-Riascos M, Carvajal-Higuita LC, Castrillón-Sánchez, HE, Puerta-Gallo N (2017) Agroindustria del cacao. *SENNOVA*. 51p.
- Mendoza-López A, Gallardo-Méndez RA, Avendaño-Arrazate CH (2011) El mundo del cacao (*Theobroma cacao* L.) Kakaw (Maya), Cacahuatl (Nahuatl). *Agro Productividad* 4: 18-26
- Mendoza-López, A (2018) EL MUNDO DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.) KAKAW (Maya), CACAHUATL (Nahuatl). *Agro Productividad* 4:18-26
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2011) The CIPRES science gateway: a community resource for phylogenetic analyses. In *Proceedings of the 2011 TeraGrid Conference: extreme digital discovery* 1-8.
- Minh BQ, Schmidt HA, Chernomor O, Schrempf D, Woodhams MD, Von Haeseler A, Lanfear R (2020) IQ-TREE 2: new models and efficient

- methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular biology and evolution* 37: 1530-1534.
- Mongkolsamrit S, Khonsanit A, Thanakitpipattana D, Tasanathai K, Noisriboom W, Lamlerthton S, Luangsa-Ard J (2020) Revisiting *Metarhizium* and the description of new species from Thailand. *Studies in Mycology* 95: 171-251.
- Monzón A (2002) Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Catie* 63: 95-103
- Mora (2013) Sintomatología del chinche en el cultivo de cacao. Tropical Agricultural Research and Higher Education Center.
- Mosquera J (2020) Inventario actualizado de artrópodos en el cultivo de cacao *Theobroma cacao* L. en el cantón Milagro provincia del Guayas. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Niembro A, Vásquez M, Sánchez O (2010) Árboles de Veracruz. 100 especies para la reforestación estratégica. Gobierno del Estado de Veracruz de Ignacio de la Llave, CITRO. Veracruz, México. 255p.
- Niemenak N, Cilas C, Rohsius C, Bleiholder H, Meier U, Lieberei, R (2009) Phenological growth stages of cacao plants (*Theobroma* sp.): codification and description according to the BBCH scale. *Annals of Applied Biology* 156: 13-24.
- Nishi O, Sato H (2019) Isolation of *Metarhizium* spp. from rhizosphere soils of wild plants reflects fungal diversity in soil but not plant specificity. *Mycology* 10: 22-31.
- Obando JA, Bustillo AE, Castro U, Mesa NC (2013) Selection of strains of *Metarhizium anisopliae* to control *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 39: 26-33.

- Orlandelli RC, Pamphile JA (2011) Fungo Entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* como agente de control biológico de insetos pragas. SaBios-Revista de Saúde e Biologia 6: 79-82.
- Ortiz-Caton, Alatorre-Rosas R, Valdivia-Bernal, R, Ortiz-caton, A, Medina-Torres, R, Alejo-Santiago G (2011) Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos entomopatógenos.
- Palomeque E, Romero I, Figueroa E (2022) *Theobroma Cacao* L. Chiapas, México. <https://www.researchgate.net/publication/357889684> Theobroma Cacao L. Fecha de consulta 10 de diciembre de 2022.
- Perinotto WM, Golo PS, Rodrigues CJC, Sá FA, Santi L, da Silva, WOB, Bittencourt VR (2014) Enzymatic activities and effects of mycovirus infection on the virulence of *Metarhizium anisopliae* in *Rhipicephalus microplus*. Veterinary Parasitology 203: 189-196.
- Porrás L, Lecuona R (2008) Estudios de laboratorio para el control de *Ceratitis capitata* (Wiedmann) (Diptera: Tephritidae) (Mosca del Mediterráneo) con *Beauveria bassiana*. Agronomía Costarricense 32: 119-128.
- Portillo E, Graziani de Fariñas L, Cros E (2006) Efecto de algunos factores post-cosecha sobre la calidad sensorial del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.). Revista de la Facultad de Agronomía 23: 51-59.
- Pucheta-Díaz M, Flores-Macías A, Rodríguez-Navarro S, De la Torre M (2006) Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. Interciencia 31: 856-860.
- Quintos-Coronado CR (2019) Evaluación del daño de *Antiteuchus* sp en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el valle del Bajo Mayo, región San Martín. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de San Martín, San Martín, Perú. 3-44.
- Ramírez A, Rodríguez L (1999) Plagas y enfermedades de cacao.

- Ramírez HG, Granja AZ, Aguila ET, Cantoral MT (2014) Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. Laboratorio de entomopatógenos SCB-SENASA. Peru.
- Razinger J, Schroers HJ, Urek G (2018) Virulence of *Metarhizium brunneum* to field collected *Agriotes* spp. wireworms. Journal of Agricultural Science and Technology 20: 309-320.
- Resquin-Romero G, Cabral-Antunez C, Sarubbi-Orue H, Garrido-Jurado I, Valverde-García P, Schade M, Butt TM (2020) Virulencia de las cepas *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) contra las chinches *Euschistus heros* y *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae). Revista de Entomología Económica 113: 2540-2545.
- Reyes H, Capriles L (2000) El Cacao en Venezuela. Moderna Tecnología para su cultivo. Caracas, Venezuela: Chocolates el Rey 270 p.
- Ricaño-Rodríguez J (2018) El estudio genómico del cacao (*Theobroma cacao* L.); breve recopilación de sus bases conceptuales. Agro Productividad 11: 29-35.
- Rodríguez M, Gerding M, France A (2009) Selección de Hongos Entomopatógenos para el Control de *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). Chilean journal of agricultural research 69: 534-540.
- Ruiz-Cancino E, Coronado-Blanco JM (1999) Pulgones de los cítricos. CIDAFF. Tamaulipas, Chiapas. 2p.
- SAGARPA (2017) Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Ciudad de México. 16p.
- Salas J (1984) Parasitismo natural de huevos de *Antiteuchus tripterus* (Hemiptera: Pentatomidae) por *Phanuropsis semiflaviventris* (Hymenoptera: Scelionidae) con observaciones etiológicas del parasito y el huésped. Agronomía tropical 34: 7-13.

- Sánchez V, Zambrano J, Iglesias C (2019) La cadena de valor del cacao en América Latina y el Caribe. INIAP, Quevedo, Ecuador. 99p.
- Sánchez WH, Villegas C, Marín P (2008) Evaluación en laboratorio de hongos entomopatógenos para el control de *Antiteuchus* sp. (Hemiptera: Pentatomidae) plaga de la macadamia. https://www.oriusbiotech.com/archivos/investigaciones/2008-01_cenicafemicosplag_en_antiteuchus_sp-chinche_de_macadamia-.pdf. Consultado en marzo 07 de 2019
- Sánchez-Soto S, Cortéz-Madrigal H (2000) Daños causados por *Hemeroblemma mexicana* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) en el cultivo de cacao en Tabasco, México. *Agrotropica* 12: 143-146.
- Schrank A, Vainstein MH (2010) *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon* 56: 1267-1274.
- SIAP (2022) Avances de siembras y cosechas de cultivos perennes por estado en México 2022. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do Fecha de consulta 12 de enero de 2023.
- Slizynski K, Lipa JJ (1973) Wskazówki metodyczne do wyznaczania średniego czasu zamierania (LD50) w patologii owadów i toksykologii. *Prace Naukowe Instytutu Ochrony Roślin* 15.
- Tamayo A, Cordoba O, Londoño M (2008) Tecnología para el cultivo del aguacate. Quinta edición. Colombia 203p.
- Téllez-Jurado A, Cruz-Ramírez MG, Mercado-Flores Y, Asaff-Torres A, Arana-Cuenca A (2009) Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología* 30: 73-80.

- Toriello C, Montoya SE, Zavala RM, Navarro BH, Basilio HD, Hernández VV, Mier T (2008) Virulencia y termotolerancia de cultivos monospóricos de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* de la mosca pinta (Hemiptera: Cercopidae). Revista Mexicana de Micología 28: 57- 66.
- Torres de la Cruz M, de la Cruz Pérez A, de la Cruz MP, García CFO (2019) Registro y descripción del daño de la cochinilla rosada del hibisco, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae), en *Theobroma cacao* L., en Tabasco, México. Revista Chilena de Entomología 45: 158-163
- Torres de la Cruz M, Ortiz-García CF, Téliz-Ortiz D, Mora-Aguilera A, Nava-Díaz C (2013) Efecto del azoxystrobin sobre *Moniliophthora roreri*, agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao*). Revista mexicana de fitopatología 31: 65-69.
- Umaña E, Carballo M (1994) Biología de *Antiteuchus tripterus* L. y su parasitoides *Trissolcus radix* en macadamia. CATIE. Turrialba, Costa Rica. https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/546/Biologia_de_Antiteuchus_tripterus_L.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Fecha de consulta 2 de septiembre de 2022
- Urtecho Baca IB (2023) Distribución poblacional de las principales plagas y sus enemigos naturales presentes en cacao (*Theobroma cacao* L), en las zonas de Morropón, La Quemazón, Virgen del Carmen y Tunal-Piura 2020. Tesis de licenciatura. Piura, Perú. 1-46.
- Valarezo-Cely O, Cañarte-Bermúdez E, Navarrete-Cedeño JB (2012) Artrópodos asociados al cultivo de cacao. La técnica 7: 34-42
- Valle S, Carrera K, Alemán R, Caicedo W (2021) Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium spp.* para el control de *Mahanarva andigena* en el cultivar de caña de azúcar POJ93 en la Amazonía ecuatoriana. Idesia (Arica) 39: 69-75.

- Valle-Ramírez, SB, Torres-Gutiérrez R, Caicedo-Quinche WO, Abril-Saltos RV, Sucoshañay-Villalba, DJ (2022) Aislamiento y caracterización de *Metarhizium* spp. de cultivos de caña de azúcar y su patogenicidad contra *Mahanarva andigena* (Hemiptera: Cercopidae). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 23.
- Veen K. (1968) Recherches sur la maladie, due al *Metarrhizium anisopliae* chez le criquet pelerin. Tesis de doctorado. Wageningen University and Research. Nederlandans. 1-77p.
- Villamizar LF, Barrera G, Hurst M, Glare TR (2021) Characterization of a new strain of *Metarhizium novozealandicum* with potential to be developed as a biopesticide. *Mycology* 1: 261-278.
- White TJ, Bruns T, Lee SJ, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- Yepes-Rodríguez, FC (2019) Nuevo hospedero de la chinche negra, *Atiteuchus tripterus* Fabricius, 1787 (Hemiptera: Pentatomidae). *Revista Metroflora-agro* 91.
- Yousef M, Lozano-Tovar MD, Garrido-Jurado I, Quesada-Moraga E (2013) Biocontrol of *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) with *Metarhizium brunneum* and its extracts. *Journal of Economic Entomology* 106: 1118-1125.
- Zimmermann G (2007) Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and technology* 17: 879-920.

Anexo 7

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional

Título de Tesis:	CARACTERIZACIÓN DE ISLAMIENTOS NATIVOS DE <i>Metarhizium sp.</i> PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA CHINCHE <i>Antiteuchus tripterus</i> (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) EN TABASCO, MÉXICO
Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:	<ul style="list-style-type: none"> - Miguel Ángel Mayo Hernández - Magdiel Torres de la Cruz - Manuel Pérez de la Cruz
ORCID:	0009-0004-2877-4558 0000-0002-5030-5932 0000-0002-0886-3025
Resumen de la Tesis:	<p>Con la finalidad de identificar y seleccionar aislamientos nativos de <i>Metarhizium sp</i> para el contro de la chinche negra del cacao (<i>Antiteuchus tripterus</i>) en Tabasco, Mexico, se aislaron cinco cepas fúngicas de las cuales se caracterizaron conforme a variables morfológicas, moleculares, fisiológicas y patogénicas. El crecimiento micelial, la germinación y la producción de conidios en medio SDA se evaluaron a 25, 30 y 35. Además se evalio la producción de conidios en arroz a 25°C. Los aislamientos se edificaron como <i>M. brunneum</i>. Todos los aislamientos de <i>M. brunneum</i> mostraron variabilidad intraespecífica en cuanto a desarrollo micelial, velocidad de germinación, producción conidial y patogenicidad. Hubo diferencias ($P < 0.0085$) en el crecimiento micelial a 25°C. No hubo crecimiento micelial a 35°C. El rango de temperatura favorable para los aislamientos nativos de <i>M. brunneum</i> fue de 25-30°C. por otro lado hubo diferencias significativas en la producción de conidios en arroz ($P < 0.0004$.) El tiempo requerido para la germinación del 50% de conidios (TG50 varió de 7.8 a 21.9 h, el TG90 vario de 9.5 a 27.7 h. los cinco aislamientos fúngicos evaluados mostraron efectividad patogénica sobre <i>A. tripterus</i> fueron TCCH5 y TCCH9. Este trabajo reporta a <i>M. brunneum</i> como el causante muscardina verde de <i>A. tripterus</i> en Tabasco, México. La variabilidad intraespecífica en las características evaluadas muestra la importancia de la caracterización de aislamientos nativos, además revela el potencial de <i>M. brunneum</i> para el desarrollo de bionsecticidas contra <i>A. tripterus</i></p>
Palabras claves de la Tesis:	Control biológico; entomopatógenos; <i>Theobroma cacao</i>
Referencias citadas:	115